ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 38, 3, 2004

УДК 576.895.421 + 591.434.1

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНИКА НИМФ КЛЕЩЕЙ РОДА IXODES (ACARINA: IXODIDAE) ВО ВРЕМЯ И ПОСЛЕ ПИТАНИЯ

© Л. А. Григорьева

Кишечный эпителий у питающейся нимфы представлен пищеварительными клетками личиночной фазы. Переваривание основной части пищи осуществляет одна генерация пищеварительных клеток нимфальной фазы после отпадения клеща в период линьки. Этот период предшествует аполизису. Генерация секреторных клеток на нимфальной фазе отсутствует. Секреторные вакуоли формируются в пищеварительных клетках личиночной фазы. Все функционирующие клетки образуют на своей апикальной поверхности слой перитрофического матрикса. Смена пищеварительных клеток личиночной фазы на клетки нимфальной происходит постепенно в течение первых 5—10 сут после отпадения клеща. Пищевые включения начинают откладываться в молодых пищеварительных клетках нимфальной фазы после отпадения клеща на 10—15-е сут.

Особенности морфофункциональных перестроек эпителиального пласта кишечника нимф иксодин заслуживают особого внимания в связи со способностью последних сохранять и осуществлять трансфазовую передачу возбудителей многих трансмиссивных инфекций, таких как вирус клещевого энцефалита, Borrelia burgdorferi s. l. (Балашов и др., 1997, 1998) и Babesia microti (Rudzinska et al., 1982; Rundolph, 1998). Клещи инфицируются этими возбудителями во время питания и их последующая передача новым особям хозяев возможна только при трансфазовой передаче при питании следующей фазы жизненного цикла. Как показали многие исследователи (Балашов, 1995; Rundolph, 1998), циркуляция возбудителей и генерализация инфекции в организме переносчика приурочены, как правило, к критическим периодам внутренних морфофункциональных перестроек. Для иксодовых клещей это период однократного многодневного питания каждой фазы на одном прокормителе, когда клещ поглощает огромные количества крови, частично переваривает ее. За этот период кишечник многократно увеличивается в объеме и заполняет бóльшую часть идиосомы (Балашов, 1998).

Питание нимф иксодовых клещей продолжается 4—5 сут, причем масса тела в среднем увеличивается в 10—16 раз (с 0.35 до 5.5 мг у *Ixodes persulcatus*). Принято считать, что у нимф иксодин пищеварение протекает в основном сходно с самками, состав и строение клеток средней кишки те же, что и у самок (Балашов, 1967, 1998). Замена пищеварительных клеток на клетки следующей фазы происходит более растянуто и в значительной степени после линьки по мере расходования заключенных в них пищевых резервов (Таежный..., 1985; Балашов, 1998).

Для нимф, также как и для самок искодин, описан перитрофический матрикс как неровный монослой, покрывающий кишечный эпителий (Rudzinska et al., 1982; Lung et al., 1989; Zhu et al., 1991, 1993), однако, в связи со сменой и постоянным возобновлением клеток кишечного эпителия особенности образования и изменения матрикса на протяжении питания и увеличения объема кишки остаются не выясненными.

Наши последние работы (Григорьева, 2003; Григорьева, Амосова, 2004) показывают, что в кишечнике самок клещей рода *Ixodes* за период кровососания происходит смена 5 генераций клеток, причем каждая клетка самостоятельно выделяет на свою поверхность слой перитрофического матрикса. Аналогичных сведений для нимф в литературе нет, поэтому мы сочли целесообразным восполнить имеющийся пробел.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Нимфы клещей *Ixodes pacificus* Cool et Kohls, 1943, *I. pavlovsky* Pom., 1946, *I. persulcatus* Schulze, 1930, *I. ricinus* (L., 1758) и *I. scapularis* Say, 1821 были получены из культуры клещей лаборатории паразитологии Зоологического института РАН. Напитавшихся нимф содержали в эксикаторах с насыщенным раствором сульфата натрия при 97 %-ной влажности и 21—23 °C в режиме 18 ч света и 6 — темноты. Развитие нимф *I. persulcatus* и *I. ricinus* проходило без диапаузы, задержки линьки не было, что согласуется с результатами исследований В. Н. Белозерова (Таежный..., 1985). Для гистологических исследований использовали голодных и питающихся нимф через 10, 18, 24, 36, 44, 60, 69, 84, 96, 108 ч после присасывания, а также через 10, 20, 30, 40, 45, 50 и 57 сут после отпадения. Клещей фиксировали целиком в 9 %-ном формалине и спирт-формалине, надрезая кутикулу. Материал заливали в парафин через метилбензоат-целлоидин. Срезы, толщиной 5 мкм окрашивали азур-эозином, азаном по Гейденгайну, гематоксилин-эозином.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кишечник голодных нимф после выплода, через 40 сут после кормления личинок, состоял из пищеварительных клеток личиночной фазы (рис. 1, см. вкл.). Эти клетки содержали запасные питательные вещества и вследствие больших размеров занимали почти весь просвет кишки. Кроме того, в кишечном пласте выделялись недифференцированные компактные клетки с крупными ядрами. В полости кишки находились скопления гематина. На апикальной поверхности клеток перитрофический матрикс не обнаруживался.

Голодные нимфы через 2 месяца после выплода накануне кормления имели сильно уменьшившийся в размерах кишечник, стенка которого состояла из пищеварительных клеток личиночной фазы почти полностью израсходовавших запасные питательные вещества, но содержащих в цитоплазме гранулы гематина (рис. 2). В пищеварительных клетках дивертикулов еще могут сохраняться запасные вещества. Недифференцированные клетки составляют кишечный пласт на 1/15—1/20 части. Перитрофический матрикс отсутствует.

К ст. Л. А. Григорьевой, с. 220, 221

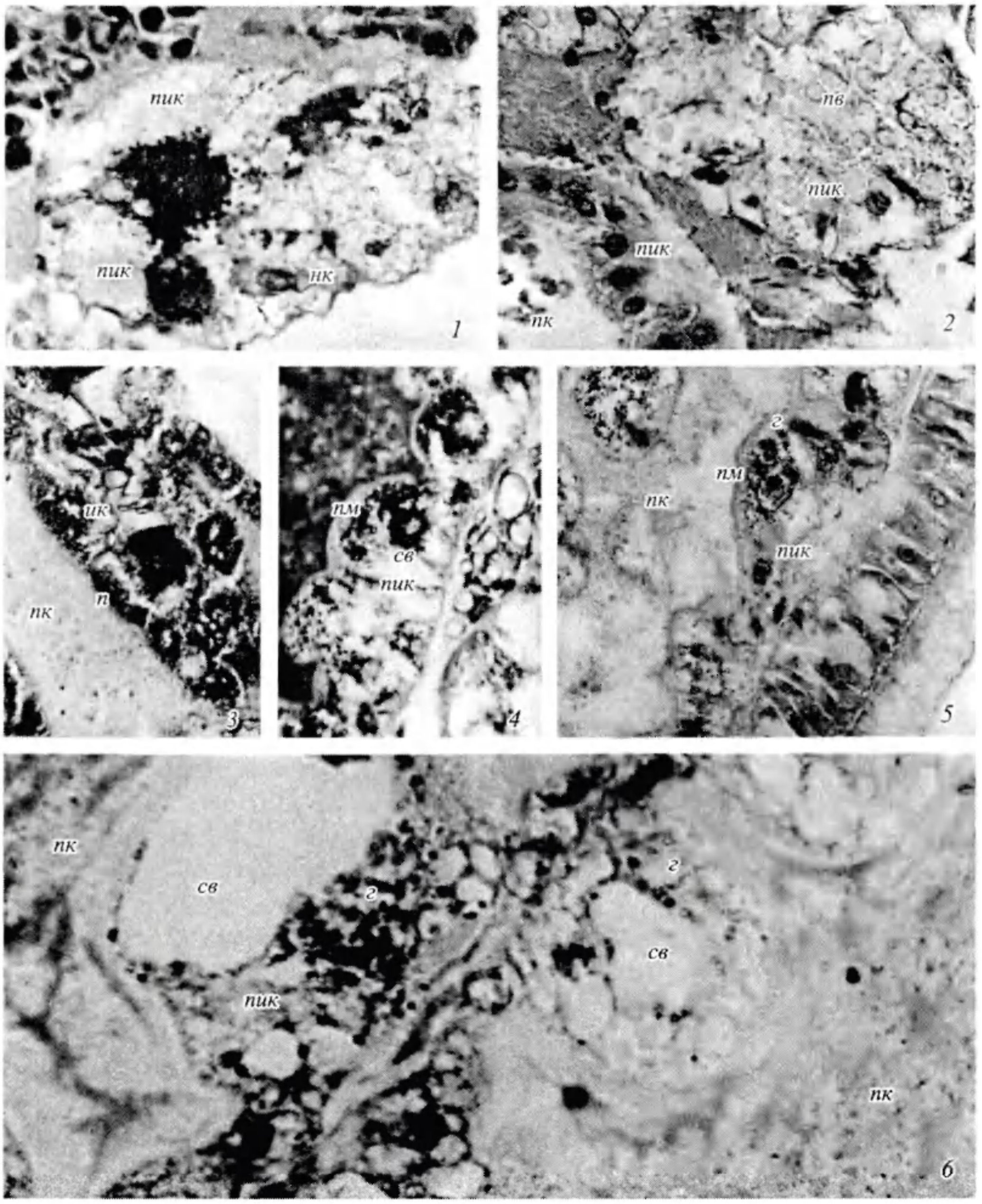

Рис. 1—6. Изменения кишечника нимф клещей рода *Ixodes* во время и после питания.

1 — голодная нимфа *I. persulcatus* через 40 сут после выплода. ×945. Азур-эозин; *2* — голодная нимфа *I. ricinus* через 2 мес после выплода. ×945. Азур-эозин; *3* — нимфа *I. persulcatus*, 10 ч питания. ×600. Гематоксилин-эозин; *4* — нимфа *I. pacificus*, 10 ч питания. ×945. Гематоксилин-эозин; *5* — нимфа *I. pacificus*, 18 ч питания. ×600. Азур-эозин; *6* — нимфа *I. persulcatus*, 69 ч питания. ×600. Азур-эозин.

г — гематин, *нк* — недифференцированные клетки, *пв* — пищевые включения, *пик* — пищеварительная клетка, *пк* — полость кишки, *пм* — перитрофический матрикс, *св* — секреторные вакуоли.

Changes in midgut of tick nymphs of the genus *Ixodes* during feeding and after detachment.

В первые часы после прикрепления клеща к хозяину в полость кишки начинают поступать транссудат и экссудат с гранулоцитами. Одновременно с заполнением полости кишки жидким содержимым начинается рост пищеварительных клеток личиночной фазы, который проявляется появлением в их цитоплазме большого количества секреторных вакуолей. Таким образом, через 10—18 ч после присасывания клеща в его желудке (рис. 3, 4, 5) и в дивертикулах пищеварительные клетки личиночной фазы выглядят сильно раздувшимися, содержат в цитоплазме гранулы гематина и немногочисленные секреторные вакуоли. В полости кишки заметны эритроциты. На апикальной поверхности этих клеток хорошо виден перитрофический матрикс. В дивертикулах пищеварительные клетки, содержащие секреторные вакуоли, наблюдаются еще и на 3 сут после прикрепления клеща (рис. 6).

На 2.5—3 сут в желудке происходит отторжение апикальных участков пищеварительных клеток личиночной фазы в полость кишки (рис. 7); в них содержится большинство секреторных вакуолей и гранулы гематина. В это же время начинает поступать кровь сначала в желудок (рис. 8), а на 4—5 сут в дивертикулы (рис. 9). В содержимом полости кишки преобладают цельные эритроциты, заметны немногочисленные лейкоциты. Стенка кишки сильно растянута. Заполнение кишечника продолжается до полного насыщения и отпадения клеща. Пищеварительные клетки растягиваются в ширину. Они продолжают функционировать, на их поверхности, обращенной в полость кишки, четко различим перитрофический матрикс, цитоплазма содержит гранулы гематина (рис. 10). В эпителиальном пласте кишечника эти клетки значительно преобладают над недифференцированными элементами. Такое соотношение наблюдается и в течение первых 7—10 сут после отпадения клеща. В этот период старые пищеварительные клетки, принадлежащие личиночной фазе, начинают замещаться новыми пищеварительными клетками нимфальной фазы, которым принадлежит основная роль в переваривании пищи и накапливании резервных питательных веществ.

Содержимое отторгнутых пищеварительных клеток личиночной фазы смешивается с кровяным содержимым полости кишки, вероятно, обеспечивая гемолиз эритроцитов. Однако наиболее отчетливо гемолиз виден в зоне, близкой к перитрофическому матриксу пищеварительных клеток нимфальной фазы. После отпадения нимфы большинство эритроцитов в полости кишки подвергается гемолизу. Возможно, это происходит вследствие незначительных сдвигов pH кишечного содержимого в пределах слабощелочных значений (pH в полости кишки *I. ricinus* равна 7.2—7.6 (Балашов, 1967), а значения pH крови млекопитающих лежат в пределах 7.35—7.45 (Грин и др., 1990)), хотя это явно не основная причина гемолиза эритроцитов. Вероятно, большую роль играют изменения температуры и осмотического давления новой среды.

Переваривание основной части потребленной пищи происходит после отпадения нимф и продолжается примерно 30 сут; у нимф на предыдущих исследованных сроках после отпадения в полости кишки содержится гемолизированный пищевой ком. Пищеварительные клетки накапливают запасные питательные вещества, так что после 30—40 сут после отпадения они сильно гипертрофированы, заполнены гранулами запасных питательных веществ, содержат некоторое количество гематина, который выделяют в полость кишки (рис. 11, 12). Перитрофический матрикс продолжает существовать на поверхности пищеварительных клеток примерно до 30 сут после

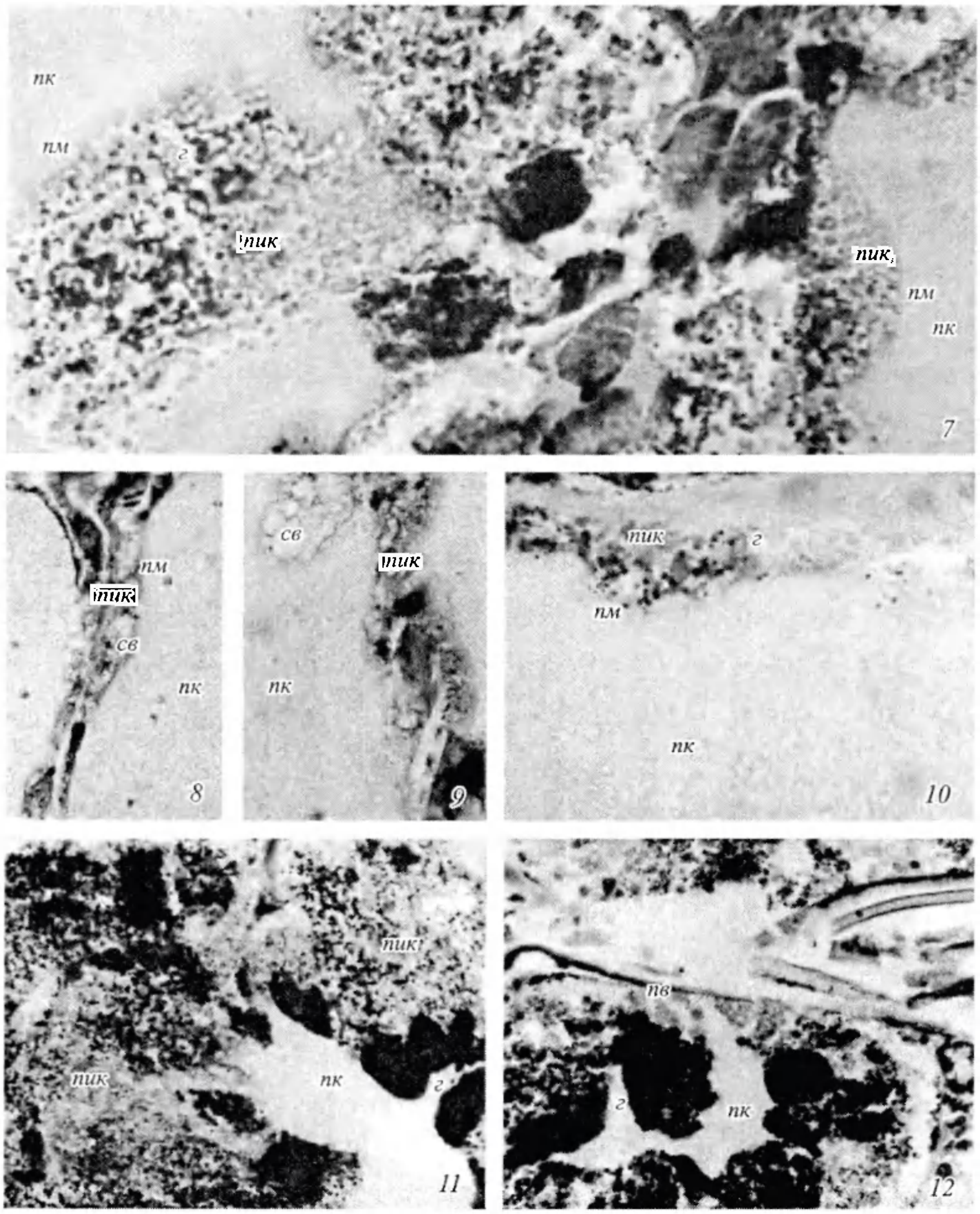

Рис. 7—12. Изменения кишечника нимф клещей рода *Ixodes* во время и после питания.

7 — нимфа *I. pacificus*, 2.5 сут питания. ×945. Гематоксилин-эозин; *8* — нимфа *I. scapularis*, 69 ч питания. Желудок. ×600. Азур-эозин; *9* — нимфа *I. scapularis*, 69 ч питания. Дивертикул. ×600. Азур-эозин; *10* — нимфа *I. persulcatus*, полное питание. ×600. Азур-эозин; *11* — нимфа *I. persulcatus*, 40 сут после отпадения. ×600. Азур-эозин; *12* — нимфа *I. persulcatus*, 40 сут после отпадения. ×600. Азур-эозин. Обозначения те же, что и на рис. 1—6.

отпадения нимф. В конце этого срока клетки начинают выделять гематиновые гранулы в полость кишки, что, вероятно, способствует разрушению слоя матрикса, так как на более поздних сроках он не обнаруживается.

Кишечник нимфы накануне линьки так же как и кишечник только что перелинявшей самки содержит пищеварительные клетки нимфальной фазы с запасными питательными веществами и недифференцированные клетки.

Таким образом, на стадии питающейся нимфы кишечный эпителий представлен пищеварительными клетками личиночной фазы. Переваривание основной части пищи осуществляют пищеварительные клетки нимфальной фазы после отпадения клеща в период линьки, предшествовавшей аполизису. В переваривании пищи принимают участие пищеварительные клетки нимфы только одной генерации. В период кровососания пищеварение осуществляют клетки личинки. Генерация секреторных клеток у нимф отсутствует, как вероятно, и у личинок, в отличие от самок. Секреторные вакуоли формируются в пищеварительных клетках личинок. Все функционирующие клетки образуют на своей апикальной поверхности слой перитрофического матрикса. При бездиапаузном развитии у нимф наблюдается асинхронность в процессах смены систем органов одной фазы на другую. При имагинальной линьке наблюдается замена кутикулы, трахейной системы, слюнных альвеол, формирование половой системы (Таежный..., 1985), однако в период послелиночного доразвития и активности у голодной нимфы и в период питания кишечный эпителий представляют пищеварительные клетки личиночной фазы. Смена пищеварительных клеток личиночной фазы на клетки нимфальной фазы происходит постепенно в течение первых 5—10 сут после отпадения клеща. Следовательно, смена клеточного состава органов при линьке не синхронизирована, а кишечник является наиболее стабильной в организме клеща системой, не подвергающейся гистолизу. Смена кишечного эпителия, вероятно, синхронизируется с последовательными этапами линьки и послелиночного доразвития, в которые, в связи со сменой клеточных генераций в средней кишке, преобладает полостное или внутриклеточное пищеварение. Пищевые включения начинают откладываться в молодых пищеварительных клетках нимфальной фазы после отпадения клеща на 10—15 сут. На 40—50 сут после отпадения клеща в полости кишки содержатся лишь скопления гематина, пищеварение заканчивается, пищеварительные клетки заполнены запасными пищевыми включениями.

Целостность кишечника и стабильность пищеварительных процессов в нем на протяжении каждой фазы жизненного цикла клеща и периодов линьки позволяют предполагать постоянство среды кишечника, как трофической и топической ниши для возбудителей инфекций, и, в частности, боррелий. На всех фазах жизненного цикла клеща боррелии обнаруживаются либо на апикальной поверхности кишечных клеток у голодных особей, либо продвигаются по межклетникам, а иногда и через клетки (Амосова, 2000) в область базальной мембраны (Балашов и др., 1997). При условии, что все системы органов, кроме кишечника, при линьке формируются заново, а размеры трансфазовой передачи боррелий достаточно высоки (Балашов и др., 1998), следует признать, что главным местом, депонирующим возбудителя, является кишечник.

Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Инициативный грант № 02-04-48666) и Гранта поддержки ведущих научных школ (№ НШ-1664.2003.4).

Список литературы

Амосова Л. И. Электронно-микроскопическое исследование боррелий в организме самок иксодового клеща Ixodes persulcatus // Паразитология. 2000. Т. 34, вып. 3. С. 234—240.

Балашов Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodoidea) — переносчики болезней человека и животных. Л.: Наука, 1967. 320 с.

Балашов Ю. С. Взаимоотношения иксодовых клещей (Ixodidea) с возбудителями трансмиссивных инфекций позвоночных животных // Паразитология. 1995. Т. 29, вып. 5. С. 337—352.

Балашов Ю. С. Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб., 1998. 287 с.

Балашов Ю. С., Амосова Л. И., Григорьева Л. А. Трансовариальная и трансфазовая передачи боррелий таежным клещом Ixodes persulcatus (Ixodidea) // Паразитология. 1998. Т. 32, вып. 6. С. 489—494.

Балашов Ю. С., Григорьева Л. А., Оливер Дж. Х. Локализация боррелий в организме клеща Ixodes persulcatus на разных стадиях развития // Паразитология. 1997. Т. 31, вып. 2. С. 97—103.

Григорьева Л. А. Морфофункциональные изменения средней кишки самок клещей рода Ixodes (Acarina: Ixodidea) во время и после питания // Паразитология. 2003. Т. 37, вып. 3. С. 177—184.

Григорьева Л. А., Амосова Л. И. Особенности перитрофического матрикса в кишечнике самок клещей рода Ixodes (Acarina: Ixodidea) // Паразитология. 2004. Т. 38, вып. 1. С. 3—11.

Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. М.: Мир, 1990. Т. 3, 376 с.

Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidea): Морфология, систематика, экология, медицинское значение / Под ред. Н. А. Филипповой. Л., 1985. 416 с.

Rundolph S. E. Ticks are not Insects: Consequences of Contrasting Vector Biology for Transmission Potential // Parasitology Today. 1998. Vol. 14, N 5. P. 186—192.

Rudzinska M. A., Spielman A., Lewengrub S., Piesman J., Karakashian S. Penetration of the peritrophic membrane of the tick by Babesia microti // Cell Tissue Res. 1982. Vol. 221. P. 471—481.

Zhu Z., Gern L., Aeschlimann A. The peritrophic membrane of Ixodes ricinus // Parasitol. Res. 1991. Vol. 77, N 6. P. 635—641.

Zhu Z., Gern L., Aeschlimann A. A preliminary observation on the peritrophic membrane atrophy in engorged nymphal Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) using light and electron microscopes // Bulletin de la Societe neuchateloise des Sciences naturelles. 1993. T. 116, F. 2. P. 15—23.

Zung J. L., Lewengrub S., Rudzinska M. A. Fine structural evidence for the penetration of the Lyme disease spirochete Borrelia burgdorferi through the gut and salivary tissues of Ixodes dammini // Can. J. Zool. 1989. Vol. 67. P. 1737—1748.

Зоологический институт РАН,
Санкт-Петербург

Поступила 12 XII 2003

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE MIDGUT OF TICK NYMPHS OF THE GENUS IXODES (ACARINA: IXODIDAE) DURING AND AFTER FEEDING

L. A. Grigorieva

Key words: *Ixodes*, nymph, midgut epithelium, digestive cells.

SUMMARY

The midgut epithelim of feeding nymph is represented by the digestive cells of larval phase. Digestion of the main part of feed is performed by the one generation of digestive cells of nymphal phase after detachment, during moult. This period precedes the apolysis.

The generation of secretory cells is absent on the nymphal phase. Secretory vacuoles are formed in the digestive cells of larval phase. All functioning cells form a peritrophic matrix on their apical surface. The replacement of the digestive cells of larval phase by the digestive cells of nymphal phase proceeds gradually, during the first 5—10 days after detachment. The beginning of the accumulation of digestive inclusions in the young digestive cells of nymphal phase takes place in the 10—15 days after detachment.